

## پلی مورفیسم ناحیه پروموتور ژن رمز کننده آنتی ژن ۴ وابسته به لنفوسیت T سیتوتوکسیک در لوپوس اریتماتوز: گزارش کوتاه

### چکیده

دریافت: ۱۳۹۲/۱۰/۰۲ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۰۴ آنالیز: ۱۳۹۴/۰۱/۲۴

**زمینه و هدف:** آنتی ژن ۴ وابسته به لنفوسیت T سیتوتوکسیک نقش مهمی در جلوگیری از اختلالات خود ایمنی مانند بیماری لوپوس اریتماتوس سیستمیک بر عهده دارد. مطالعه حاضر با هدف بررسی رابطه بین پلی مورفیسم 318CT با بیماری لوپوس اریتماتوس سیستمیک انجام شد.

**روش بررسی:** مطالعه مورد-شاهدی حاضر بر روی کلیه بیماران مبتلا به لوپوس مراجعه کننده به درمانگاه تخصصی بیمارستان ۵ آذر گرگان از ۱۵ اردیبهشت ماه ۱۳۸۷ تا ۱۵ مهرماه ۱۳۸۸ انجام شد. ۱۸۰ فرد بیمار و ۳۰۴ فرد سالم که از لحاظ سن و قومیت با افراد بیمار همسان بودند، وارد مطالعه شدند. جهت تعیین فراوانی ال-ها و ژنوتیپ‌ها از تکنیک PCR-RFLP (Polymerase chain reaction- restriction fragment length polymorphism) استفاده شد.

**یافته‌ها:** ژنوتیپ CC در ۱۷۰ بیمار (۹۴/۵٪) مشاهده شد که به لحاظ آماری تفاوت معناداری با گروه کنترل داشت ( $P=۰/۰۰۰۱$ ,  $OR=۳/۵۱$ ,  $CI/۹۵=۱/۷۷-۷/۵۳$ ). در حالیکه ال به طور معناداری در گروه کنترل بیشتر بود ( $P=۰/۰۰۰۱$ ,  $OR=۰/۲۶$ ,  $CI/۹۵=۰/۱۳-۰/۵۳$ ).

**نتیجه گیری:** نتایج بررسی حاضر نشان داد، پلی مورفیسم 318CT در بیماری زایی بیماری لوپوس اریتماتوس سیستمیک نقش دارد.

**کلمات کلیدی:** CTLA-4، لوپوس اریتماتوس سیستمیک، پلی مورفیسم، ژنتیک، پروموتور.

مهدیه شجاع<sup>۱</sup>، مهرداد آقایی<sup>۲\*</sup>  
مهسا آملی<sup>۳</sup>، پاتریشیا خشیار<sup>۴</sup>  
نائمه جاوید<sup>۵</sup>، فاطمه شاکری<sup>۵</sup>  
مصطفی قربانی<sup>۶</sup>، رامین محبی<sup>۷</sup>

۱- گروه داخلی، پژوهشگر، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، مرکز تحقیقات استنبورز، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.  
۲- گروه روماتولوژی، مرکز تحقیقات استخوان، مفصل و بافت همبند، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گرگان، ایران.  
۳- پژوهشکده غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.  
۴- گروه نانوبیوتکنولوژی، مرکز تحقیقات استنبورز دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.  
۵- گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گلستان، ایران.  
۶- گروه آمار، مرکز تحقیقات روماتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه بهداشت عمومی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران.  
۷- پزشک عمومی، دانشگاه علوم پزشکی شاهد، تهران، تهران، ایران.

\* نویسنده مسئول: گرگان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، دانشکده پزشکی

تلفن: ۰۱۷۱-۴۲۲۱۶۵۴

E-mail: aghaie1390@gmail.com

### مقدمه

می‌دهد.<sup>۲</sup> اگرچه بیماری در نژادها و قومیت‌های مختلف وجود دارد اما شیوع بیماری در میان خانم‌ها رایج‌تر می‌باشد.<sup>۱</sup> به طوری که بروز آن در آمریکا ۹/۳ مورد به ازای هر صدهزار نفر در میان خانم‌ها می‌باشد<sup>۳</sup> و در ایران نیز ۴۰ مورد به ازای هر صدهزار نفر گزارش شده است.<sup>۴</sup> هرچند علل و پاتوژنز بیماری ناشناخته می‌باشد اما به نظر می‌رسد که دو فاکتور محیطی و ژنتیک هر دو در بروز بیماری دخیل باشند.<sup>۵</sup> به نظر می‌رسد در موارد التهابات خود ایمنی، ژن CTLA-4 گیرنده‌های سلول‌های T را تضعیف می‌کند تا از پاسخ‌های

بیماری لوپوس اریتماتوس سیستمیک (SLE) یک اختلال خودایمنی با علل ناشناخته می‌باشد که با تولید اتوآنتی‌بادی علیه اجزای سلولی منجر به فعال شدن سلسله‌ای از واکنش‌های ایمنولوژیک و التهابی شده و در نهایت موجب بروز تخریب سلولی و بافتی می‌گردد.<sup>۱</sup> بیماری، بافت‌ها و ارگان‌های مختلفی نظیر کلیه‌ها، مفاصل، پوست، سلول‌های خونی و سیستم عصبی را تحت تأثیر قرار

اکستانسیون نهایی هفت دقیقه در  $72^{\circ}\text{C}$  بود. سپس محصولات PCR با روش Polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) و با استفاده از آنزیم محدود کننده MseI (New England Biolabs [NEB], Hitchin, Hertfordshire, U.K.) مورد بررسی قرار گرفتند. نتیجه واکنش‌ها توسط ژل آگارز ۳٪ و با رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید مشاهده گردید. قطعات به‌دست آمده برای ال ال C، ۲۲۶ و ۲۱ جفت باز و برای ال ال T، ۲۱، ۹۶ و ۱۳۰ جفت باز بودند (شکل ۱). داده‌های به‌دست آمده توسط SPSS software, version 16 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای آنالیز داده‌ها از Chi-square test استفاده شد و نسبت شانس ابتلا به بیماری برای هر آلل و ژنوتیپ به‌طور جداگانه محاسبه گردید.  $P < 0.05$  معنادار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

۱۸۰ بیمار مبتلا به لوپوس اریتماتوس سیستمیک وارد مطالعه شدند. ۹۱/۷٪ بیماران (۱۶۵ نفر) را زنان تشکیل می‌دادند. میانگین سنی بیماران  $32/99 \pm 10/45$  با محدوده سنی ۱۳ تا ۷۰ سال گزارش شد. ۱۵٪ بیماران سابقه بیماری در افراد درجه یک خانواده را بیان کردند اما ارتباط بیماری با سابقه خانوادگی به لحاظ آماری معنادار نبود، همچنین ۳۰۴ نفر (۱۸۱ زن و ۲۳ نفر مرد) که سابقه هیچگونه بیماری خود ایمنی نداشتند و از نظر قومیت و سن با افراد بیمار همسان بودند به‌عنوان گروه کنترل وارد مطالعه شدند. فراوانی ال‌ها و ژنوتیپ‌ها و رابطه آنها با بیماری پرداخته شده است (جدول ۱).

توزیع ژنوتیپ‌ها در گروه کنترل مطابق با تعادل هاردی-واینبرگ بود. اگرچه ژنوتیپ غالب در هر دو گروه بیمار و سالم به ترتیب با فراوانی ۹۴/۵٪ و ۸۲/۴٪ CC گزارش گردید اما این ژنوتیپ به‌طور معناداری با بیماری در ارتباط بود ( $P=0/0001$ ,  $OR=3/51$ ). از طرف دیگر ژنوتیپ CT به‌طور معناداری در گروه کنترل از فراوانی بیشتری برخوردار بود ( $P=0/0001$ ,  $OR=0/28$  vs ۱/۱۷٪). ال T نیز با فراوانی ۹/۲٪ در گروه کنترل نسبت به فراوانی ۲/۸٪ در بیماران مشاهده گردید که این ارتباط به لحاظ آماری معنادار بود ( $OR=0/26$ ).

واکنشی جلوگیری کند،<sup>۶</sup> همچنین اختلال ایمنولوژیک اتوآنتی‌بادی‌ها علیه اجزای سلولی منجر به فعال شدن سلسله‌ای از واکنش‌های ایمنولوژیک و التهابی شده و در نهایت موجب بروز تخریب سلولی و بافتی می‌گردد.<sup>۱</sup> مشاهده شده است که بیان CTLA-4 در بیماران با لوپوس فعال افزایش می‌یابد و این افزایش می‌تواند دلالت بر نقش پلی‌مورفیسم‌های CTLA-4 در پاتوژنز بیماری لوپوس داشته باشد.<sup>۸</sup> یکی از این پلی‌مورفیسم‌ها 318CT می‌باشد که در ناحیه پروموتور ژن واقع شده و رابطه آن با بیماری SLE در مطالعات مختلف، مورد بررسی قرار گرفته است.<sup>۹،۱۰</sup> بنابراین مطالعه حاضر با هدف نقش پلی‌مورفیسم 318CT در بروز بیماری لوپوس اریتماتوس سیستمیک انجام شده است.

### روش بررسی

مطالعه حاضر به صورت مورد-شاهدی حاضر بر روی تمامی بیماران مبتلا به لوپوس که از ۱۵ اردیبهشت ماه ۱۳۸۷ تا ۱۵ مهرماه ۱۳۸۸ به درمانگاه تخصصی بیمارستان آموزشی درمانی پنج آذر شهرستان گرگان مراجعه کرده بودند، انجام شد.

پس از تایید بیماری با استفاده از معیارهای American College of Rheumatology (ACR)<sup>۱۱</sup> و نظر پزشک فوق تخصص، ۱۸۰ بیمار وارد مطالعه شدند. ۳۰۴ فرد سالم که از لحاظ سن و جنسیت با گروه بیمار همخوانی داشتند نیز به‌عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند. از کلیه افراد شرکت‌کننده در مطالعه رضایت‌نامه کتبی دریافت شد. داده‌های فردی مورد نیاز و علائم بالینی بیماران مورد بررسی قرار گرفت و در چک لیست از پیش تعیین شده ثبت گردید. از تمامی بیماران نمونه خون محیطی جهت انجام آزمایشات گرفته شد. DNA بیماران و گروه شاهد از گلوبول‌های سفید خون محیطی با استفاده از پروتکل استاندارد کیت (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) استخراج گردید. DNA استخراج شده با پرایمرهای اختصاصی شامل: forward 5'-AAATGAATTGGACTGGAT-3' و reverse 5'-TTACGAGAAAGGAAGCCGTG-3' و GGT-3' با استفاده از تکنیک PCR تکثیر گردید. برنامه واکنش PCR شامل دو دقیقه در دمای  $94^{\circ}\text{C}$ ، ۳۰ چرخه، با دناتوراسیون در  $94^{\circ}\text{C}$  به مدت ۳۰ ثانیه، آنیلینگ  $60^{\circ}\text{C}$  در ۳۰ ثانیه و اکستنسین  $72^{\circ}\text{C}$  در ۳۰ ثانیه.

جدول ۱: توزیع فراوانی ال و ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم 318CT در بیماران و گروه کنترل

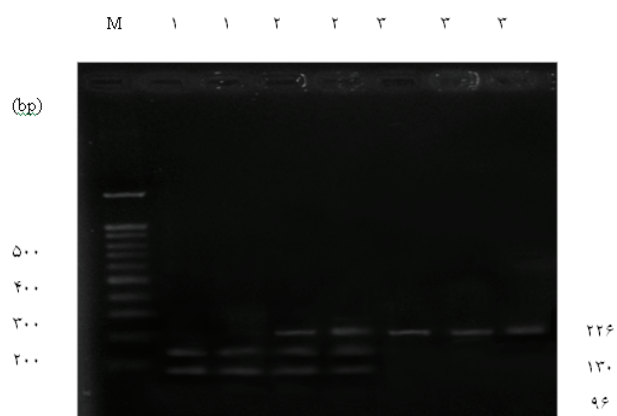
پلی مورفیسم ۱۶۶۱	بیماران (%)	کنترل (%)	P	OR (CI/۹۵)
ژنوتیپ				
CC	۱۷۰ (۹۴/۵)	۲۵۱ (۸۲/۴)	۰/۰۰۰۱	۳/۵۱ (۱/۷۷-۷/۵۳)
CT	۱۰ (۵/۵)	۵۲ (۱۷/۱)	۰/۰۰۰۱	۰/۲۵ (۰/۱۴-۰/۵۷)
TT	۰ (۰)	۱ (۰/۵)	۰/۶۲	۱ (۰/۹۹-۱/۰۱)
مجموع	۱۸۰	۳۰۴		
ال				
C	۳۵۰ (۹۷/۲)	۵۵۲ (۹۰/۸)	۰/۶۲	۱ (۰/۹۹-۱/۰۱)
T	۱۰ (۲/۸)	۵۶ (۹/۲)	۰/۰۰۰۱	۰/۲۶ (۰/۱۳-۰/۵۳)
مجموع	۳۶۰	۶۰۸		

جهت تعیین شانس ابتلا به بیماری برای هریک از ال ها و ژنوتیپ‌ها از Chi-square test استفاده شد.

وراثت یکی از ریسک فاکتورهای مهم ابتلا به SLE به شمار می‌رود. واضح است که آنتی ژن ۴ وابسته به لنفوسیت T سیتوتوکسیک (CTLA-4) نقش مهمی در بازدارندگی فعالیت سلول‌های T بر عهده دارد<sup>۱۳</sup> و کاهش بیان یا سطح عملکرد CTLA-4 در پاتوژنز اختلالات خود ایمنی مانند لوپوس اریتماتوس سیستمیک موثر می‌باشد.

اگرچه علت بیماری SLE تاکنون ناشناخته باقی مانده است اما شواهد نشان می‌دهد پلی مورفیسم‌های ژن CTLA-4 نقش مهمی در ابتلا به بیماری لوپوس ایفا می‌کنند. برخی مطالعات ارتباط معناداری بین بیماری و پلی مورفیسم‌های ژن CTLA-4 عنوان کرده‌اند.<sup>۱۲-۱۴، ۱۵</sup> حالیکه برخی دیگر هرگونه ارتباط بین پلی مورفیسم‌های ژن و بیماری لوپوس را رد کرده‌اند.<sup>۱۵، ۱۶</sup>

در بررسی حاضر ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم 318CT و بیماری لوپوس یافت شد. نتایج نشان داد ژنوتیپ CC به‌طور معناداری با بیماری در ارتباط می‌باشد. در حالیکه ژنوتیپ CT و CC از فراوانی بیشتری در گروه کنترل برخوردار بودند. بر خلاف یافته‌های مطالعه حاضر، Lee و همکاران گزارش کردند ژنوتیپ CT در بیماران از فراوانی بیشتری برخوردار می‌باشد و فراوانی ژنوتیپ‌های CC و TT در افراد سالم شایع‌تر می‌باشد.<sup>۱۶</sup> تفاوت ذکر شده در این دو مطالعه را می‌توان به تفاوت نژادی بین دو جمعیت ایران و کره نسبت داد. اگرچه مطالعه مذکور الگوی متفاوتی از بررسی‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد اما تنها مطالعه‌ای می‌باشد که در بررسی‌های انجام شده رابطه معنادار مثبتی با بیماری نشان می‌دهد و سایر مطالعات انجام شده در امریکا، ژاپن، مالزی، کره، انگلستان و



شکل ۱: پلی مورفیسم 318CT ژن CTLA-4. الکتروفورز ژل آگارز. M مارکر ۱۰۰ جفت بازی، (۱) ژنوتیپ TT (۱۳۰، ۹۶ و ۲۱ جفت بازی)، (۲) ژنوتیپ CT (۲۲۶، ۱۳۰، ۹۶ و ۲۱ جفت بازی)، (۳) ژنوتیپ CC (۲۲۶ و ۲۱ جفت بازی). باند ۲۱ جفت بازی مشاهده نگردید

اگرچه ال C در افراد بیمار از فراوانی بیشتری نسبت به افراد سالم برخوردار بود اما این ارتباط از نظر آماری معنادار نبود ( $P=0/۰۰۰۱$ ).  
( $P=0/۶۲$ )

## بحث

مطالعات مختلفی عنوان می‌کنند که فاکتورهای محیطی و ژنتیکی در کنار یکدیگر ریسک ابتلا به بیماری را افزایش می‌دهند.<sup>۱۱</sup> اما

این دو مطالعه در جمعیت مورد مطالعه ایفا می‌کند. بنابراین نظر به اینکه مشابه مطالعه حاضر تاکنون در کشور انجام نشده است، مطالعات بیشتر با حجم نمونه بالاتر در سایر مناطق جهت دستیابی به نتایج محکم‌تر پیشنهاد می‌گردد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی با عنوان "بررسی پلی‌مورفیسم‌های ژن CTLA-4 در بیماران مبتلا به لوپوس اریتماتوی سیستمیک" مصوب دانشگاه علوم پزشکی گرگان در سال ۸۸ می‌باشد که با حمایت این دانشگاه انجام شده است.

اسپانیا وجود هرگونه ارتباط پلی‌مورفیسم مورد بررسی را با بیماری رد می‌کند.<sup>۱۵، ۱۷، ۱۹ و ۲۰</sup> اگرچه بررسی حاضر، پلی‌مورفیسم مورد بررسی را مرتبط با بیماری یافت اما همچنانکه ذکر گردید غالب مطالعات انجام شده هیچگونه ارتباطی بین پلی‌مورفیسم 318CT و بیماری نیافتند.<sup>۱۷-۲۰</sup> نتایج متناقض سایر مطالعات با بررسی حاضر می‌تواند به علت تفاوت در قومیت و نژاد، حجم نمونه، سن بیماران و درجه پیشرفت بیماری باشد.

در نهایت به نظر می‌رسد پلی‌مورفیسم 318CT نقش معناداری در

## References

1. Utz PJ. Multiplexed assays for identification of biomarkers and surrogate markers in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2004;13(5):304-11.
2. Alonso-Perez E, Suarez-Gestal M, Calaza M, Witte T, Papasteriades C, Marchini M, et al. Association of systemic lupus erythematosus clinical features with European population genetic substructure. *PLoS One* 2011;6(12):e29033.
3. Somers EC, Marder W, Cagnoli P, Lewis EE, DeGuire P, Gordon C, et al. Population-based incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus: the Michigan Lupus Epidemiology and Surveillance program. *Arthritis Rheumatol* 2014;66(2):369-78.
4. Davatchi F, Jamshidi AR, Banihashemi AT, Gholami J, Forouzanfar MH, Akhlaghi M, et al. WHO-ILAR COPCORD Study (Stage 1, Urban Study) in Iran. *J Rheumatol* 2008;35(7):1384.
5. Kyogoku C, Tsuchiya N. A compass that points to lupus: genetic studies on type I interferon pathway. *Genes Immun* 2007;8(6):445-55.
6. Eagar TN, Karandikar NJ, Bluestone JA, Miller SD. The role of CTLA-4 in induction and maintenance of peripheral T cell tolerance. *Eur J Immunol* 2002;32(4):972-81.
7. Parks CG, Hudson LL, Cooper GS, Dooley MA, Treadwell EL, St Clair EW, et al. CTLA-4 gene polymorphisms and systemic lupus erythematosus in a population-based study of whites and African-Americans in the southeastern United States. *Lupus* 2004;13(10):784-91.
8. Lee YH, Kim YR, Ji JD, Sohn J, Song GG. Polymorphisms of the CTLA-4 exon 1 and promoter gene in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2001;10(9):601-5.
9. Chen SL, Deng F, Jiang F, Liu JJ, Meng W. Correlation between CTLA-4 gene polymorphism and systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi* 2012;28(12):1320-3.
10. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997;40(9):1725.
11. Chai HC, Phipps ME, Chua KH. Genetic risk factors of systemic lupus erythematosus in the Malaysian population: a minireview. *Clin Dev Immunol* 2012;2012:963730.
12. Pullmann R Jr, Lukác J, Skerenová M, Rovensky J, Hybenová J, Melus V, et al. Cytotoxic T lymphocyte antigen 4 (CTLA-4) dimorphism in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol* 1999;17(6):725-9.
13. Fernandez-Blanco L, Perez-Pampin E, Gomez-Reino JJ, Gonzalez A. A CTLA-4 polymorphism associated with susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2004;50(1):328-9.
14. Khalaf AT, Song JQ, Gao TT, Yu XP, Lei TC. CTLA-4 gene polymorphism and the risk of systemic lupus erythematosus in the Chinese population. *J Biomed Biotechnol* 2011; Doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2011/167395>
15. Takeuchi F, Kawasaki K, Nabeta H, Mori M, Tanimoto K. CTLA-4 dimorphisms in Japanese patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol* 2003;21(4):527-8.
16. Lee YH, Choi SJ, Kim YR, Ji JD, Song GG. Polymorphisms of CTLA-4 exon 1 and promoter genes in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *J Korean Rheum Assoc* 2000;7(1):53-61.
17. Chua KH, Puah SM, Chew CH, Tan SY, Lian LH. Study of the CTLA-4 gene polymorphisms in systemic lupus erythematosus (SLE) samples from Malaysia. *Ann Hum Biol* 2010;37(2):274-80.
18. Hudson LL, Rocca K, Song YW, Pandey JP. CTLA-4 gene polymorphisms in systemic lupus erythematosus: a highly significant association with a determinant in the promoter region. *Hum Genet* 2002;111(4-5):452-5.
19. Heward JM, Allahabadia A, Carr-Smith J, Daykin J, Cockram CS, Gordon C, et al. No evidence for allelic association of a human CTLA-4 promoter polymorphism with autoimmune thyroid disease in either population-based case-control or family-based studies. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1998;49(3):331-4.
20. Aguilar F, Torres B, Sanchez-Roman J, Nurez-Roldan A, Gonzalez-Escribano MF. CTLA4 polymorphism in Spanish patients with systemic lupus erythematosus. *Hum Immunol* 2003;64(10):936-40.

## Association between CTLA-4 gene polymorphism and the risk of systemic lupus erythematosus: *brief report*

Mahdieh Shojaa<sup>1</sup>  
Mehrdad Aghaie M.D.<sup>2\*</sup>  
Mahsa Amoli M.D.<sup>3</sup>  
Patricia Khashayar Ph.D.<sup>4</sup>  
Naemeh Javid<sup>5</sup>  
Fateme Shakeri<sup>5</sup>  
Mostafa Qorbani Ph.D.<sup>6</sup>  
Ramin Mohebbi<sup>7</sup>

1- Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Osteoporosis Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. 2- Bone Joint and Connective Tissue Disease Research Center (BJCRC), Department of Rheumatology, Faculty of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. 3- Endocrinology & Metabolism Research Center (EMRC), Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. 4- Nano biotechnology, Osteoporosis Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

5- Department of Internal Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Golestan, Iran.

6- Department of Public Health, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran, Non-Communicable Diseases Research Center, Endocrinology and Metabolism Population Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

7- General Practitioner, Shahed University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

\* Corresponding author: Golestan University of Medical Sciences, Shastkola St., Gorgan, Iran.  
Tel: +98- 171- 4421654  
E-mail: aghaie1390@gmail.com

### Abstract

Received: 23 Dec. 2013 Accepted: 24 Jan. 2013 Available online: 13 Apr. 2015

**Background:** Cytotoxic lymphocyte antigen-4 (CTLA-4) plays an important role in regulating T cell activation. CTLA-4 gene polymorphisms are related with genetic susceptibility to various autoimmune diseases, including systemic lupus erythematosus (SLE). We analyzed the role of CTLA-4 polymorphisms at positions -318CT in patients who suffer from SLE.

**Methods:** This study was performed on 180 SLE patients referred to 5<sup>th</sup> Azar University Hospital in Gorgan, Iran. Three hundred and four ethnically-and age-matched healthy controls with no history of autoimmune diseases entered the study between 5<sup>th</sup> May 2008 and 23<sup>rd</sup> October 2009. DNA was extracted from blood samples according to the standard procedure. Polymerase chain reaction- restriction fragments length polymorphism (PCR-RFLP) was used to analyze the genotype and allele frequencies of this polymorphism. PCR was carried out using the following primers: forward 5'-AAATGAATTGGACTGGATGGT-3' and reverse 5'-TTACGAGAAAGGAAGCCGTG-3'. The frequency of alleles and genotypes were assessed using direct counting. Chi-square test and Fisher's exact test were used to compare the association between the alleles and genotype frequencies and SLE.  $P < 0.05$  were considered statistically significant.

**Results:** The CC genotype was observed in 94.5% of the SLE patients and 82.4% of the controls; the difference was statistically significant ( $P = 0.0001$ ,  $OR = 3.51$ ,  $CI_{95\%} = 1.77-7.53$ ). The CT genotype, on the other hand, was more frequently observed in the control group (17.1% vs. 5.5%,  $P = 0.0001$ ,  $OR = 0.28$ ). T allele was significantly more common in the controls compared to SLE patients ( $P = 0.0001$ ,  $OR = 0.26$ ,  $CI_{95\%} = 0.13-0.53$ ).

**Conclusion:** Our results suggest that the -318C/T polymorphism of CTLA-4 gene might play a significant role in the genetic susceptibility to SLE. Therefore, further studies on populations, especially from other Middle East countries, are needed to confirm our results.

**Keywords:** CTLA-4, polymorphism, genetics, promoter regions, systemic lupus erythematosus.